馬鈴薯毒素病之研究

2. 馬鈴薯種薯毒素病之個別檢定

劉 康 鑑　陳 明 雄

一、前　　言

在臺灣，爲建立馬鈴薯健全無病種薯自給自足之系統，著者之一曾於民國53、54年間，前後三期，於新竹區農業改良場五峯分場，以血清方法田間檢定馬鈴薯X毒素，並淘汰病株，而得健全種薯[1]。又進一步於溫室內以個別檢定法檢定此等種薯，以期確立健全無病之馬鈴薯原原種薯。此法自1921年由 Blodgett and Fernon 創始後，經歐美諸先進國家及日本廣泛應用於馬鈴薯原原種薯之檢定，並獲得良好效果[2,6]。

本文詳細介紹個別檢定法，並將所得結果加以分析，另又涉及血清製造及其效能問題。

二、材料及方法

供爲個別檢定之種薯爲經三期血清方法田間檢定所得之無病農林一號馬鈴薯。每一塊莖記以號碼，用抉芽刀[6]，於塊莖頂部挖出一芽，按順序排於芽皿[6]內。使用之抉芽刀皆經500倍昇汞水浸漬消毒者。倘尚在休眠之塊莖則使用50倍 Ammonium Thiocyanate 浸漬半小時，以求打破休眠。挨晾乾後再按順序種植於種植箱（長44cm，寬28cm，高20cm）內。種植箱內裝以混合適當量堆肥之土壤，並經土壤殺菌劑消毒，用打洞器預先開洞（間隔8cm）以固定芽塊之種植位置。種植後經二十或二十五天，待植株生長齊一時，即行血清方法檢定馬鈴薯X毒素。檢定方法乃與田間檢定者相同，爲玻片沈降法 (Slide flocculation method)[1,2,6]。玻片沈降法所得結果，如有懷疑時，再進行接種試驗。以千日紅 (*Gomphrena globosa*) 爲判別植物。

本試驗個別檢定中所用之抗X血清乃本系自行製造者。將罹病種薯盆栽後，取其嫩葉，以其汁液做摩擦接種於 *Datura stramonium* 上，再經千日紅單病斑分離接種於菸草上。以菸草上之毒素爲接種源再大量繁殖於菸草上。經一個月後採集所有病葉，依照 Bawden and Kleczkowski (1948)[7] 之方法進行部分純化，以供製造抗血清抗原之用。每公撮抗原加上一公撮乳化劑 (Freund's imcomplete adjuvant)，乳化後注射於家兎後腿筋肉。每隔七天注射一次，共注射四次。於最後一次注射後第十天進行採血，連續採血三次。如此收集之血液置 37°C 溫水槽半小時後，移置於冰箱中過夜。次日傾出血清，經遠心分離沉澱紅血球，即得抗馬鈴薯X毒素血清。再將此等血清分裝於二公撮安培，冷凍貯藏於 − 20°C 冰箱內。所得抗血清利用 Microprecipitin test[3] 檢定其力價。比較本試驗中不同抗血清之力價，並與國外寄來抗血清比較。

三、結　　果

1. 自製抗血清之力價：使用六毒素株個別免疫家兎所得之抗血清與原來毒素株反應之力價，除一毒素株之抗血清力價較弱爲64倍外，其餘皆達到 1,024倍以上，最高者可達 16,384倍之高。由荷蘭花卉種苗繁殖場分讓之抗血清與四毒素株反應結果最低爲64倍，最高爲 4,096 倍。由此可見自製抗X血清與國外進口者相比較，不單毫無遜色，且其力價尚淩駕其上。

2. 個別檢定：於新竹區農業改良場五峯分場，經三期血清方法田間檢定所得之健全塊莖 200 個中，取178個進行檢定試驗。其中45個未發芽，故實際檢定數爲133個。利用血清檢定馬鈴薯X毒素之結果如表 1。

Table I. The serological examination of potato seedlings for PVX in tuber indexing test

Date	Potato variety	No. of eyes planted	No. of seedlings examined	No. of seedlings of positive reaction	% of infected seedlings
July 18	Norin No. 1	178	133	11+4[1]	11.28%

1. Seedling showed uncertain reaction.

爲確認陽性反應不明顯者之罹X毒素病情形，乃使用千日紅爲判別植物做接種試驗。其結果與血清方法之結果比較如表Ⅱ。

Table II. Comparison of results of serological test and inoculation test

Seedling no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Slide flocculation test	+[1]	+	+	+	+	±[3]	±	±	±	+	+
Inoculation test	−[2]	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−

1. Positive reaction. 2. Negative reaction. 3. Uncertain reaction.

四、討　　論

個別檢定法一般先以肉眼觀察，並將病徵諸如植株萎縮、葉色之濃淡、變色及嵌紋之有無，葉之變形如波狀、捲葉及壞疽之有無等詳細記載分類之(6)。

本試驗，於夏季溫室內進行，由於溫度高，各種毒素病不易顯出病徵，難以肉眼辨認，故利用血清方法檢出潛在嵌紋病 (Latent mosaic)，並淘汰病薯，以確保健全無病之原原種。經血清檢查反應不明顯者，再以千日紅做接種試驗，結果11株之中只有 1 株呈現陽性反應。夏季溫度高使病徵不易顯現，爲影響檢出率低之原因。在檢查植株 133 株中，僅有11株爲陽性反應，4 株爲反應不明顯者。罹病率爲11.28%，與第一次田間檢定之99.02%，第二次之 55.17%，第三次之 38.08% 較之(1)，以血淸法檢定X毒素病並淘汰病株之方法確有減少毒素病罹病株之效能。

在臺灣，現已能製造優良之抗馬鈴薯X毒素血清，今後以血淸方法檢定淘汰病薯，培育無病種薯以確立健全種薯自給自足之目標已不難達到矣。

五、摘　　要

爲確保健全無病之馬鈴薯原原種薯，乃於溫室內以個別檢定法檢定經三期血清方法田間檢定所得之健全種薯。供試種薯178個中，有133個發芽，利用血淸法檢定X毒素之結果，11株爲陽性反應，4 株反應不明顯。約有百分之八十九之種薯爲健全者。較之前三次田間檢定之結果，健全種薯之數目確有顯著增加。

參 考 文 獻

1. 劉康鑑：1966 馬鈴薯毒素病之研究 1.馬鈴薯X毒素病田間檢定 農業研究 15 (2)：31-36
2. Murayama, D. 1959. Immunological Studies on the Potato Virus Diseases. 307 p. Hokkaido University. Japan.
3. Van Slogteren D.H.M. 1954. Serological micro-reactions with plant viruses under paraffin oil. Reprinted from: Proceedings of The Second Conference on Potato Virus Diseases Lisse-Wageningen, 25-29 June.
4. 郭國柱：1965 馬鈴薯種薯供應試驗 (第二報)馬鈴薯X毒素病抗血淸之製造及力價之檢定 農業研究 14 (1)

: 26--28
5. Matthews R.E.F. 1957 Plant Virus Serology 128 p. Cambridge University Press.
6. 日高醇等 1960 植物ウイルス病 400 p. 朝倉書店 日本
7. Bawden, F.C. and Kleczkowski, A, 1948 J. Gen. Microbiol. 2: 173.

STUDIES ON POTATO VIRUSES
2. Tuber Indexing for Potato Viruses

By

KANG-CHIEN LIU and MING-HSIUNG CHEN

SUMMARY

One hundred and seventy eight healthy seed tubers obtained from the field inspected potato crops at Wu-feng Branch, Hsing-chu Agricultural Experiment Station were subjected to the tuber indexing in greenhouse. The presence of PVX in seedlings was examined by serological method and by inoculation tests. Among 133 seedlings examined, 11 showed positive reaction while 4 showed unclear reaction, nearly 89% of the seedlings tested were healthy